Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek

Einfluß von Alanin auf den Glykogenstoffwechsel bei experimenteller akuter Urämie

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Rainer Glöckner
aus Schweinfurt

Würzburg, den 20. Nov. 1980

1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek

Einfluß von Alanin auf den Glykogenstoffwechsel bei experimenteller akuter Urämie

Inaugural - Dissertation
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Rainer Glöckner
aus Schweinfurt

Würzburg, den 20. Nov. 1980

Referent:	Prof. Dr. A. Heidland
Korreferent:	Prof. Dr. K. Kochsiek
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Mai 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1 - 5
2.	METHODEN	6 - 11
3.	ERGEBNISSE	12 - 31
4.	DISKUSSION	32 - 37
5.	ZUSAMMENFASSUNG	38
6.	LITERATURVERZEICHNIS	39 - 55

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0142

1. EINLEITUNG

Das akute Nierenversagen ist als der plötzliche Zusammenbruch der exkretorischen Nierenfunktion als Folge einer akuten, in der Regel reversiblen renalen Parenchymschädigung definiert (1). Begleitende Krankheiten wie Schock, Sepsis, Peritonitis, Pankreatitis, Schädel-Hirn-Trauma sowie Verbrennungen und Verletzungen führen oft zur hyperkatabolen Form des akuten Nierenversagens. Dabei wächst der Kalorienbedarf von 35 Kcal/kg Körpergewicht auf 50 - 70 kcal/kg KG (2, 3). Entsprechend vergrößert sich der Bedarf an Aminosäuren von 0,4 g/kg KG beim nicht dialysierten Patienten bis auf 2 g/kg KG beim dialysierten, hyperkatabolen Kranken (4, 5). Neben der ausreichenden Zufuhr von reinen Kalorienträgern, wie Kohlenhydraten und Fetten, ist es nötig Aminosäuren zu substituieren. Wird diese Bedingung nicht erfüllt, verstärkt sich der Proteinkatabolismus, der zunächst vor allem Enzymproteine betreffen soll. Dies führt zu einer weiteren Funktionsverminderung wichtiger Organe (6, 7). Eine Studie von Abel und Mitarbeitern zeigt, daß die Letalität des akuten Nierenversagens von 56 % auf 24 % durch die Dauerinfusion von essentiellen Aminosäuren in Kombination mit 50 % Glukose gesenkt werden kann (8). Ein Ziel der diätetischen Therapie ist es daher, durch ein geeignetes Gemisch von Aminosäuren, sowie Hydroxy- und Ketoanalogen der Aminosäuren den Katabolismus zu verhindern (9, 10, 11, 12, 13, 14).

Eine wichtige Stellung nimmt dabei die glukoplastische Aminosäure Alanin ein, die im postabsorptiven Zustand aus Muskel und Darm freigesetzt wird und von der Leber aufgenommen wird (15 - 23). 30 % des zirkulierenden Alanin sind vorgeformtes Alanin aus Protein, 70 % entstammen einer Neusynthese aus Pyruvat (23, 24). Die Aminogruppen für die Transaminierungsreaktion werden von verzweigtkettigen Aminosäuren geliefert, die im Muskel oxidiert werden (19, 25, 26). Das Pyruvat entsteht entweder aus dem Abbau von Protein (27, 28, 29, 30, 31, 32)oder aus der Glykolyse (33). Im

Glukose-Alanin-Zyklus wird Glukose im Muskel zu Pyruvat abgebaut, das zu Alanin transaminiert wird. Das Alanin wird zur Leber transportiert, in den Lebermitochondrien desaminiert und ist dann neben Laktat, Pyruvat, Glycerol und anderen glukoplastischen Aminosäuren Substrat der Glukoneogenese (16, 23, 34, 35, 36). Der Alanin-Glukose-Zyklus dient außerdem dem Transport von Aminogruppen in die Leber (21, 38). Zwischen dem Cori-Zyklus, bei dem Laktat die Transportform der Kohlenstoffgerüste für die Glukoneogenese ist, und dem Glukose-Alanin-Zyklus bestehen enge Beziehungen, da Laktat und Alanin über ihre gemeinsame Vorstufe Pyruvat austauschbar sind (37, 39). In der ersten Stunde nach Gabe von Alanin wird diese Aminosäure zu 50 % in Laktat umgewandelt. In der zweiten bis dritten Stunde sind 29 % des Alanin als Glukose nachzuweisen, 28 % sind in Protein eingebaut und 40 % sind zu CO_2 oxidiert (24). In der Urämie sind Produktion und Ausstoß von Alanin aus dem Muskel bei normalen Gewebsspiegel gesteigert, während der Blutspiegel von Alanin erhöht ist (40, 41, 42). Dies wird als Folge einer verminderten Unterdrückung der Alanin-Freisetzung durch Serotonin und Adrenalin beschrieben(43). Die Aufnahme von Alanin in die Leber ist erhöht, ebenso die Glukoneogenese (44, 45). Die Ursache dafür liegt möglicherweise in einem erhöhten Substratangebot, das durch einen erhöhten Proteinabbau und durch eine beschleunigte Utilisation der Aminosäuren begründet ist (45). Bei chronisch urämischen Patienten wurden aber auch normale Plasmaalaninkonzentrationen (46, 47) gefunden, und die Aufnahme von Alanin in die Leber wurde als normal (47) oder nur leicht gesteigert (48) beschrieben. Die gesteigerte Glukoneogenese ist eine mögliche Ursache der Hyperglykämie, die in der Urämie beobachtet wird (45, 49, 50, 51). Ein weiterer Grund ist in der Insensibilität des peripheren Gewebes gegenüber Insulin zu suchen (51 - 58). Dadurch ist die Aufnahme von Glukose in den Muskel vermindert. Der erhöhte Spiegel von STH und die abnorme Antwort von STH auf die Glukosegabe zeigen keine Korrelation mit der Glukoseintoleranz (56, 59-62). Der Plasmaspiegel von Glukagon von chronisch urämischen Patienten ist erhöht. Infundiert man Glukose, so sinkt der Glukagonspiegel, er steigt nach eiweißreicher

Nahrungsaufnahme. Dies entspricht dem normalen Verhaltensmuster von Glukagon; trotzdem wird durch die Glukoseinfusion keine Normalisierung des Glukagonspiegels erreicht. Der i.v.GTT ist pathologisch und es besteht eine Hyperglykämie. Durch Dialysebehandlung erzielt man eine Normalisierung der Blutglukose und des i.v.GTT; dennoch bleibt die Hyperglukagonämie bestehen. Es existiert also keine feste Beziehung zwischen der Hyperglukagonämie und der veränderten Glukosetoleranz (63).

Glukagon, Adrenalin und zyklische Nukleotide stimulieren ihrerseits die Glukoneogenese aus Laktat, Pyruvat, Alanin, Glycerol, Dihydroxyazeton und Fruktose im normalen Zustand (64, 36). Die Umwandlung von Oxalatacetat in Aspartat und Phosphoenol-Pyruvat soll von Glukagon mittels cAMP als second messenger beschleunigt werden (65, 66). Ein weiterer Weg in der Regelung des Blutzuckerspiegels ist die Speicherung von Glukose als Glykogen in Leber und Muskel bzw. der Abbau von Glykogen zu Glukose. Die drei Schlüsselenzyme in der Regulation des Glykogenstoffwechsels sind Phosphorylase-Kinase, Glykogenphosphorylase und Glykogensynthetase; über Hormone wie Katecholamine und Glukagon wird die membrangebundene Adenylatzyklase aktiviert, die aus ATP cyclisches AMP bildet. cAMP bindet sich an die Rezeptoreinheit einer Proteinkinase und setzt dadurch die katalytische Einheit dieses Enzyms frei, die die Phosphorylase-Kinase durch Phosphorylierung aus der inaktiven in die aktive Form überführt (37, 67, 68, 69). Die Phosphorylase-Kinase des Muskels ist Ca^{2+} abhängig , lokalisiert im Sarkoplasma und in Muskelmembranfraktionen und hat Einfluß auf die Regulation der Ca^{2+}-Transport-ATPase des sarkoplasmatischen Retikulums (70-74). Die Phosphorylase-Kinase aktiviert die inaktive Phosphorylase b wiederum durch Phosphorylierung zur aktiven Phosphorylase a (37, 75, 76). Im Gegensatz dazu wird die aktive dephosphorylierte Glukose-6-P unabhängige Glykogensynthetase I durch Phosphorylisation, ebenfalls von der cAMP abhängigen Proteinkinase katalysiert, in die aktive Glukose-6-P abhängige Glykogensynthetase D umgewandelt (37, 77). Die Inaktivierung der Phosphorylase a der Phosphorylase-Kinase und die Aktivierung der Glykogensynthetase D erfolgen durch Dephosphorylierung mittels

Phosphatasen. Die dephosphorylierenden Enzyme der Glykogensynthetase D und der Phosphorylase a sollen dabei identisch sein (78). Diese Phosphatase nimmt zusammen mit der Glykogensynthetase-Kinase 2 Einfluß auf die Regulation des Glykogenstoffwechsels (79, 80, 81).

Neben der hormonellen und nervalen Regelung wird der Glykogenstoffwechsel durch das Substratangebot moduliert. So führt ein Anstieg von Glukose zur Aktivierung der Glykogensynthetase und zur Hemmung der Phosphorylase ohne Veränderung des cAMP-Spiegels (82, 83). Weiter beteiligt sind UDP-Glukose, als kompetitiver Hemmstoff der Phosphorylase, und Glukose-6-Phosphat, ein allosterischer Aktivator der Glykogensynthetase (84, 85, 86). Synthese und Abbau von Glykogen können gleichzeitig nebeneinander ablaufen (87). Im Muskel von fastenden Ratten erhöht Adrenalin die Phosphorylase-Aktivität, läßt aber die Synthetase-Aktivität unbeeinflußt. Dies erklärt sich durch den modulierenden Einfluß von Substraten (84).

Im Muskel wird bei chronischer Niereninsuffizienz ein gesteigerter Umsatz des Glykogens bei normalem bis leicht erhöhten Spiegel von Glykogen beobachtet (88). Ein vermehrter cAMP-Gehalt des urämischen Muskels führt zur gesteigerten Aktivität der Phosphorylase (88, 89). Die daraus resultierende Glykogenolyse wird anscheinend durch das betaadrenerge System verursacht, da die Gabe von Propanolol den Glykogenumsatz der urämischen Ratte normalisiert (88). Im Muskel wird die Phosphorylase a synchron mit Muskelkontraktion aktiviert, was zum verstärkten Glykogenabbau und zur Glykolyse mit Resynthese des gespaltenen ATP führt (90). In der akuten Urämie spaltet die Akto-Myosin-ATPase unkontrolliert ATP und verstärkt dadurch die Glykogenolyse. Der Grund dafür liegt wahrscheinlich am fast völligen Fehlen von TNI, der inhibitorischen Untereinheit von Troponin, das zusammen mit Tropomyosin in Abwesenheit von Ca^{2+} die Aktin-Myosin-Interaktion verhindert (37, 88, 91). Die erhöhte Glykogenolyse wird durch eine gesteigerte Aktivität der Glykogensynthetase ausgeglichen, die über die Enzyme Glykogen-Synthetase-Phosphatase und Glykokensynthetase-Kinase-2 vermittelt wird (79, 80, 81, 88). In der Leber wird

bei fastenden Ratten in der akuten Urämie ein extrem niedriger Glykogenspiegel (92), bei nicht fastenden, akut und chronisch urämischen Ratten ein normaler Glykogengehalt gefunden (93, 94, 95). Leberpunktionen chronisch urämischer Patienten zeigten einen normalen Glykogengehalt (96).

In der vorliegenden Arbeit wurden akut urämische Ratten mit Alanin in Kombination mit einer proteinarmen Basisdiät gefüttet. Alanin soll dabei folgende Zwecke erfüllen:

1. Substrat für die Glukoneogenese sein
2. Energie durch Oxydation liefern
3. den Proteinabbau verhindern
4. Substrat für die Neusynthese von Protein sein.

Untersucht wurden der Blutglukose- und Harnstoff-N-Spiegel, die Aktivitäten der Phosphorylase a und b, sowie der Glykogensynthetase D und I, ebenso der Glykogen- und Proteingehalt.

2. METHODEN

2.1. Tierexperimentelle Methodik

Für die Versuche wurden weibliche Wistar-Ratten (Fa. Ivanowas/Kießlegg) mit einem durchschnittlichen Gewicht von 180 g verwandt. Bis zum Versuchsbeginn wurden die Tiere mit Trockenfutter und Wasser ad libidum gefüttert. Der Versuch wurde mit einer Operation eingeleitet. Die Ratten wurden gewogen und anschließend in einem Äthertopf anaesthesiert. Ein Teil der Tiere wurde scheinoperiert, der andere Teil wurde beidseits nephrektomiert, um eine Urämie zu erzeugen.

1. Bilaterale Nephrektomie

   Das Rückenfell wird unterhalb der Rippen in der Vertebrallinie auf 3 bis 4 cm Länge durchtrennt. Die autochtone Rückenmuskulatur wird auf beiden Seiten durchschnitten. Man stellt die Niere dar, und entfernt die Nierenkapsel unter Schonung der Nebenniere. Der Gefäßstiel wird abgebunden, und die Niere vom Stiel abgetrennt und herausgenommen. Den Muskelschnitt verklebt man mit Histoacryl-Gewebekleber, während das durchtrennte Rückenfell verklammert wird.

2. Scheinoperation

   Die Scheinoperation wird, wie oben beschrieben, durchgeführt, jedoch wird die Niere nicht dargestellt und ihrer ursprünglichen Lage belassen.

Nach der Operation wurden die Tiere zum erstenmal mit der Schlundsonde gefüttert. Weitere Fütterungen folgten in 5 beziehungsweise 10-stündlichen Abständen.

Für die Fütterung benutzten wir:

1. ein Gemisch aus proteinarmer Basisdiät (Berodiät der Fa. Boehringer, Mannheim) Zusammensetzung: 1 Beutel (48g) enthält 1000 J = 240 Kalorien, Kohlenhydrate 33,4g, Fett 11,4g, Protein 0,7g, Na 50 mg (2,2 mval)

und l-Alanin, aufgelöst in Wasser (0,67 g Berodiät + 0,3 g l-Alanin in 2 ml Wasser pro Tier in 10 Stunden, bzw. 0,335 g Berodiät + 0,15 g l-Alanin, aufgelöst in 1 ml Wasser pro Tier in 5 Stunden)

2. proteinarme Basisdiät gelöst in Wasser
(0,67 g Berodiät in 2 ml Wasser pro Tier in 10 Stunden)

Nach 20, 40 bzw. 60 Stunden wurde den Tieren aus dem retroorbitalen Venengeflecht mit einer heparinisierten Kapillare Blut zur Blutglukose, Harnstoff-N- und pH-Bestimmung entnommen. Danach wurden die Ratten mit Äther getötet. Von ventral wurde das Mediastinum und der Bauchraum eröffnet, und Herz und Leber entnommen. Ebenso wurde nach Entfernung des Fells Oberschenkelmuskulatur entnommen. Die Organe wurden sofort auf Eis gelegt und dann in Glasröhrchen bei -24° C tiefgefroren.

2.2. Laborteil

2.2.1. Blut- und Serumwerte

Blutzucker, Harnstoff-N und pH wurden nach den üblichen Labormethoden bestimmt.

2.2.2. Messung des Protein-, Glykogen-, Gesamtkohlenhydrat- und Enzymgehalts der Organe

Für diese Messungen wurde ein Rohextrakt aus den Organen gewonnen. Die gefrorenen Organe wurden gewogen und zusammen mit 4×10^{-3}m EDTA, pH 7,0 (2,5 x Gewichtsmaßzahl in ml), 15 Sekunden homogenisiert. Das Homogenisat wurde 10 min bei 15000 rpm bei 0° C in einer Sorvall-Zentrifuge zentrifugiert. Der Überstand ist der Rohextrakt, der die Ausgangssubstanz für alle weiteren Bestimmungen ist.

2.2.2.1. Proteinbestimmung nach LOWRY et al. 1951 (97)

Bestimmt wird nicht der direkte Proteingehalt der Organe, sondern der des Rohextraktes. Entsprechend beziehen sich die Proteinangaben auf 1 ml Rohextrakt.

Reagentien:

Lösung A:	2 % Na_2CO_3 in 0.1 N NaOH
Lösung B:	0.5 % $CuSO_4$ x 5 H_2O
Lösung C:	1 % Natrium-Kalium-Tartrat
Lösung D:	48 ml von Lösung A mit 1 ml Lösung C vermischen, dann 1 ml Lösung B dazugeben
Lösung E:	Folin Reagenz (mit aqua dest. 1:1 verdünnt)

Durchführung:

Der Rohextrakt wird mit destilliertem Wasser verdünnt. (Leber 1:200, Muskel 1:100) 0.5 ml Probe werden mit 5 ml Reagenz D vermischt. Nach genau 10 Minuten werden 0.5 ml Lösung E dazugegeben; 10 Minuten später werden die Proben bei 750 nm photometriert. Für die Erstellung der Eichkurve benutzt man Rinderserumalbumin in den Konzentrationen 50, 100, 200, 300, 500 µg/ml.

2.2.2.2. Glykogen- und Gesamtkohlenhydratbestimmung, modifiziert nach MONTGOMMERY (98)

Für diese Bestimmungen muß der Rohextrakt von Eiweiß befreit werden. 1 ml Rohextrakt wird mit 1 ml 10 % TCA (Endkonzentration 5 %) vermischt, 10 min in Eis gekühlt und dann 10 min in einer Tischzentrifuge zentrifugiert.

1. Glykogenbestimmung

1 ml des so gewonnenen Überstands wird mit 2,2 ml 96 % Äthanol zur Glykogenfällung vereinigt, danach geschüttelt und 10 min auf Eis gestellt.

Es folgt ein 15 minütiger Zentrifugengang in der Tischzentrifuge. Der Überstand wird abgegossen, der Niederschlag wird in 2 ml Wasser durch häufiges Schütteln aufgelöst. Für die Farbreaktion wird die Lösung nach Bedarf mit Wasser verdünnt. 2 ml der Lösung oder ihrer Verdünnung werden mit 0, 2 ml 40 % Phenollösung und 5 ml konz. Schwefelsäure vermischt. Nach 30 Minuten werden die Proben bei 492 nm im Photometer gemessen. Für die Eichkurve erstellt man Lösungen mit 20, 40, 60 , 80, 100 µg/ml Glykogen. Den Glykogengehalt bezieht man auf 1 mg Protein.

2. Gesamtkohlenhydrat

20 µl des Überstands werden mit 2 ml Wasser verdünnt. Die Farbreaktion wird wie oben beschrieben ausgeführt.

2.2.2.3. Messung der Glykogensynthetase nach THOMAS et al. (99)

Reagentien:

1. 3.75 mM ^{3}H-Glukose
   (21.2 mg UDP-Glukose auf 10 ml aqua dest. + 0.1 ml ^{3}H-UDP-Glukose)
2. Stammlösung zur Bestimmung der D-und I-Form (Gesamtaktivität)
   4 ml 10 % Glykogen
   4 ml 0.625 M Tris/HCl, 0.0125 M EDTA, 0.156 M $MgCl_2$, PH 7.6
   2 ml 0.0625 M-Glukose-6-Phosphat
3. Stammlösung zur Bestimmung der I-Form (aktive Form)
   4 ml 10 % Glykogen
   4 ml 0.625 M Tris/HCl, 0.0125 M EDTA, 0.156 M $MgCl_2$, PH 7.6
   2 ml aqua dest.

Durchführung:

100 µl ^{3}H-UDP-Glukose werden mit 50 µl Probe und 20 µl Stammlösung 2 bzw. 3 bei 30^{o} inkubiert, nach 3 min wird jeweils ein aliquot von 50 µl auf ein Whatman-Filterplättchen gegeben und die Plättchen anschließend in 66 % Äthanol (0^{o}C) getaucht für 20 Minuten (ohne Rühren). 10 Minuten wer-

den sie dann in frischer Äthanollösung und 5 Minuten in Aceton inkubiert. Nach dem Trocknen werden die Plättchen in Szintillationsgläschen gegeben und mit je 5 ml Szintillationsflüssigkeit versetzt (Rotiszint der Fa. Roth).

Den Leerwert ergibt ein leeres Filterplättchen in der Inkubationsflüssigkeit, den Totalwert ein mit 50 µl ^{3}H-UDP-Glukose getränktes Filterplättchen.

Die Aktivität berechnet sich nach folgender Formel

$$\text{Einheiten Synthetase/min/mg} = \frac{\text{cpm}_{(\text{Plättchen})} \times 187.5 \times 20}{3 \times \text{cpm}_{(\text{total})} \times \text{mg/ml Protein}}$$

2.2.2.4. Aktivitätstest der Phosphorylase im Handtest nach HEDRICK, J.L., FISCHER, E.H. (Muskel) (100) und STALMANS, W., HERS, H.G. (Leber) (101)

Reagentien:

CT: Substrat für die Phosphorylase b in der Leber
0.1 M Na-Maleat (pH 6.8), 2 % Glykogen,
0.15 M Glukose-1-Phosphat, 27.6 g Na_2SO_4 in 100 mm H_2O

CT_M: Substrat für die Phosphorylase b im Muskel
0.1 M Na-Maleat (pH 6.8), 2 % Glykogen, 2 mM AMP
0.15 M Glukose-1-Phosphat in 100 ml H_2O

ST: Substrat für die Phosphorylase a
0.1 M Na-Maleat (pH 6.8), 2 % Glykogen (AMP-frei),
0.15 M Glukose-1-Phosphat in 100 ml H_2O

Stop-Lösung: (zur Beendigung der Reaktion)
7.5 g Ammoniummolybdat, 2.7 ml 10 % SDS (Na-dodecylsulfat)
42 ml konz. H_2SO_4 in 2700 ml aqua dest.

Farbreagenz:

148.7 g Natriumhydrogensulfat, 5.0 g Natriumsulfit, 2.5 g ANSA (1-Amino-2-Hydroxynaphtalinsulfon-Säure) in 4000 ml aqua dest.

Phosphorylase-Verdünnungspuffer: 50 mM Tris/HCl, PH 6.8, 1 mM DTE (Dithioerytrit), 50 mM NaF.

Durchführung:

Zunächst werden die Rohextrakte mit dem angegebenen Puffer verdünnt (Phosphorylase a 1:20, Phosphorylase b 1:50, Phosphat 1:10). 0.1 ml dieser Verdünnungen werden mit je 0.1 ml CT-Lösung bzw. CT_M-Lösung bzw. ST-Lösung bzw. aqua dest. (Phosphat) versetzt. Nach 10 Minuten Inkubation bei 37°C werden 4,5 ml Stop-Reagenz aus einer Cito-Pipette dazugegeben. 30 Minuten nach Zugabe des Farbreagenz (0,25 ml) werden die Proben bei 578 nm gemessen. Als Standard wird eine käufliche Phosphateichlösung benutzt. Die Enzymaktivität wird in Einheiten umgesetzten Phosphats angegeben.

3. ERGEBNISSE

3.1. Vorbemerkung

3.1.1. Im folgenden Text werden zur Bezeichnung der verschiedenen Gruppen eine Reihe von Buchstaben und Zahlen verwandt, die im einzelnen bedeuten:

- Der erste Buchstabe gibt das verabreichte Futter an.
  (A = Alanin, Ba = Basisdiät(Berodiät^{R})).
- Die erste Zahl beschreibt das Fütterungsintervall
  (5 = in 5-stündlichen Abständen gefüttert,
  10 = in 10-stündlichen Abständen gefüttert)
- Der zweite Buchstabe bezeichnet die Operationsart
  (N = Nephrektomie, S = Scheinoperation)
- Die zweite Zahl gibt die Versuchsdauer an
  (20 = 20 Stunden, 40 = 40 Stunden, 60 = 60 Stunden).

3.1.2. Die Proteinkonzentration wird pro ml Rohextrakt, alle anderen Werte werden pro mg Protein angegeben.

3.1.3. Zu Beginn des Versuches wurden jeweils 5 Ratten operiert. Sind einige Gruppen kleiner, so liegt das daran, daß die fehlenden Ratten vor Versuchsende gestorben sind. Die jeweilige Anzahl der Versuchstiere ist Tabelle 3 zu entnehmen.

3.2. Serumparameter

3.2.1. Harnstoff-N (Tabelle 1)

Der Harnstoff-N-Gehalt der scheinoperierten Tiere liegt zwischen $16,8 \pm 0,4$ und $34,9 \pm 4,6$ mg/dl. Mit der Versuchsdauer steigt er bei den nephrektomierten Ratten an, bei den mit Alanin gefütterten Tieren schneller und auf höhere Werte (maximal 615 mg/dl) als bei den mit Basisdiät allein (404 mg/dl) ernährten Tieren. Das unterschiedliche

Fütterungsintervall hat keinen Einfluß auf die Höhe des Harnstoff-N.

3.2.2. Blutglukose (Tabelle 2)

Der Blutglukosespiegel scheinoperierter Ratten liegt zwischen 78,4 $\pm$ 8,4 und 110 $\pm$ 17,7 mg/dl. Unter Basisdiät bleiben die Blutglukosespiegel auch bei akuter Urämie in diesem Bereich. Bei den Alanin gefütterten Tieren zeigt sich ein Blutglukoseanstieg mit fortschreitender Versuchsdauer, so daß die 60-Stunden-Werte mit 148 $\pm$ 54 mg/dl bei 10-stündlichem Fütterungsintervall und mit 170 $\pm$ 4 mg/dl bei 5-stündlichem Fütterungsintervall über dem Normbereich liegen.
Bei Verkürzung des Fütterungsintervalls sind bereits nach 40 Stunden akuter Urämie hyperglykämische Werte zu messen (138 $\pm$ 15 mg/dl). Interessant ist die Tatsache, daß bei Tieren, denen unmittelbar präfinal Blut abgenommen wurde, Blutglukosewerte über 900 mg/dl beobachtet wurden.

3.3. Körpergewicht (Tabelle 3)

Das mittlere Körpergewicht (KG) der einzelnen Gruppen zu Versuchsbeginn liegt zwischen 156,2 $\pm$ 6,1 und 191,8 $\pm$ 2,4 g. Alle Ratten verloren während des Versuches trotz hochkalorischer Nahrung an Gewicht. Am stärksten nahmen die scheinoperierten Tiere ab (6,0 - 18,5 g); dagegen hatten die binephrektomierten Ratten geringere Gewichtsverluste (1,7 - 5,0 g). Dies erklärt sich einerseits aus einer hohen Flüssigkeitszufuhr für die anurischen Ratten, andererseits durch die fehlende renale Flüssigkeitsexkretion im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren.

3.4. Organanalysen

3.4.1. Proteingehalt (mg/ml Rohextrakt) (Tabelle 4)

3.4.1.1. Leber

Der Proteingehalt der Leber liegt bei den Alanin gefütterten Tieren zwischen 53,3 $\pm$ 11,7 g und 83,3 $\pm$ 13,6 g. Zwischen den scheinoperierten und den nephrektomierten sowie den 10 und 5-stündlich gefütterten Tieren sind keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Auch im Vergleich zu den Basisdiättieren lassen sich keine wesentlichen Differenzen nachweisen. Dividiert man aber das Anfangsgewicht durch den Proteinwert, so erhält man eine Zahl, die zwischen 2,06 und 4,21 schwankt, also als Konstante anzusprechen ist (Tabelle 11). Daraus kann man folgern, daß Änderungen im Proteingehalt, weitgehend von unterschiedlichen Anfangsgewichten bedingt sind.

3.4.1.2. Skeletmuskel

Die an der Leber beschriebenen Veränderungen ergaben sich im wesentlichen auch für die Skeletmuskel. Hier liegen die mittleren Proteinkonzentrationen mit Werten zwischen 12,5 $\pm$ 1,7 und 18,6 $\pm$ 4,1 mg/ml Rohextrakt deutlich niedriger.

3.4.1.3. Muskel-Leber-Quotient

Im Verteilungsmuster zwischen Muskel- und Leberprotein kann man eine leichte Abnahme des Muskelproteinanteils mit der Versuchsdauer erkennen. Urämische Alanintiere haben eine geringere Muskelproteinkonzentration als ihre scheinoperierten Kontrollen. Unter Basisdiät allein ist der Proteingehalt höher.

3.4.2. Gesamtkohlenhydratgehalt (Tabelle 5)

3.4.2.1. Leber

Bei scheinoperierten Ratten liegt der Gesamtkohlenhydratgehalt zwischen $36,9 \pm 17,2$ und $126,4 \pm 13,1$. Bei allen Gruppen läßt sich ein Anstieg mit der Versuchsdauer erkennen. Zwischen den Tieren, die mit Alanin gefüttert wurden und denen, die nur mit Basisdiät ernährt wurden, besteht kein sicherer Unterschied. Verkürzt man den Fütterungsabstand, so nimmt ab der 40. Stunde der Gesamtkohlenhydratgehalt zu.
Bei den binephrektomierten Ratten zeigt sich bei allen Gruppen in der 60. Stunde ein Abfall des Gesamtkohlenhydratgehaltes im Vergleich zu den scheinoperierten Kontrollgruppen. Während bei den Basisdiättieren eine eindeutig fallende Tendenz zu erkennen ist, zeigen die im 10-Stunden-Intervall mit Alanin gefütterten Tiere eine Konstanz ihrer Werte, die 5-Stunden-Alanin-Tiere einen Gipfel nach 40 Stunden. Wesentliche Unterschiede im Gesamtkohlenhydratgehalt zwischen Alanin- und Basisdiättieren bestehen nicht.

3.4.2.2. Skeletmuskel

Unter urämischen Bedingungen sind die Gesamtkohlenhydratwerte erhöht. Variation der Fütterungsabstände ergibt keine deutlichen Unterschiede. Der Anstieg bei den nephrektomierten Ratten, die im 5-Stunden-Intervall Alanin erhielten, ist wohl zufällig, da diese Tendenz weder bei den scheinoperierten Kontrollen, noch bei den nephrektomierten im 10-Stunden-Intervall mit Alanin gefütterten Tieren zu sehen ist.
Der Vergleich zu den Tieren mit Basisdiät kann nicht gezogen werden, da hier keine entsprechenden Zahlen vorliegen.

3.4.2.3. Leber-Muskel-Quotient

Der Quotient verändert sich parallel zum Leberkohlenhydratgehalt. In der 60. Stunde ist bei den nephrektomierten Ratten eine Verkleinerung des Quotienten erkennbar, verursacht durch die starke Abnahme des Lebergesamtkohlenhydratgehalts.

3.4.3. Glykogen (Tabelle 6)

3.4.3.1. Leber

Füttert man Ratten mit Basisdiät, so zeigen sich keine signifikanten Unterschiede im Glykogengehalt zwischen scheinoperierten und nephrektomierten Tieren. Die zusätzliche Alanin-Gabe bleibt ohne Einfluß auf den Glykogengehalt der Leber. Verkürzt man das Fütterungsintervall, so steigt der Glykogenspiegel sowohl bei den nephrektomierten als auch bei den scheinoperierten Ratten stark an. Eindeutige Veränderungen mit der Zeit lassen sich nicht beobachten.

3.4.3.2. Muskel

Bei den mit Basisdiät gefütterten Tieren verändert eine akute Urämie den Glykogengehalt nicht. Dagegen verhindert die Zufuhr von Alanin die Glykogenabnahme im urämischen Muskel, die bei scheinoperierten Kontrollen mit der Versuchsdauer auftritt. Verkürzung des Fütterungsintervalls führt bei beiden Gruppen zu einem höheren Glykogengehalt.

3.4.3.3. Leber-Muskel-Quotient

Unter Basisdiät verändert sich bei akuter Urämie das Glykogenverteilungsmuster zwischen Leber und Muskel nicht.
Füttert man zusätzlich Alanin, so wird dieses Verhältnis zu Gunsten des Muskels verschoben. Verkürzung des Fütterungsintervalls bewirkt eine Umkehr der Glykogenverteilung mit einer kräftigen Zunahme des Leberglykogengehaltes. Das Muskelglykogen steigt dabei ebenfalls an.

3.4.4. Phosphorylase - Aktivität

3.4.4.1. Phosphorylase a (Tabelle 7)

3.4.4.1.1. Leber

Die spezifische Aktivität der Phosphorylase a bleibt mit Fortschreiten der Versuchsdauer weitgehend konstant. Mit Ausnahme der Gruppe A5N20, die gegenüber der 10-stündlich gefütterten Vergleichsgruppe deutlich höher liegt, hat das Fütterungsintervall keinen sicheren Einfluß auf die Aktivität des Enzyms. Auffallend ist die deutlich niedrigere Aktivität der Phosphorylase a der Alanin gefütterten Ratten gegenüber den mit Basisdiät substituierten Tieren nach 60-stündiger Versuchsdauer.

3.4.4.1.2.

Bis auf die Gruppe A10N20 liegen die binephrektomierten Tiere im Normbereich der scheinoperierten Kontrollen. Während bei 10-stündigem Fütterungsintervall eine Steigerung der Enzymaktivität mit der Zeit festzustellen ist, bleiben bei den 5-Stunden-Gruppen die Werte auf demselben Niveau. Basisdiät in der Urämie steigert die Aktivität sowohl im Vergleich zu den entsprechenden Alanin-Tieren als auch zu den scheinoperierten Kontrollen.

3.4.4.2. Gesamtphosphorylase (a- und b-Form) (Tabelle 8)

3.4.4.2.1. Leber

Die akute Urämie zeigt keinen Einfluß auf die Gesamtaktivität, da sich keine sicheren Unterschiede zwischen scheinoperierten und nephrektomierten Ratten ergeben. Bei 5-stündlicher Alaninfütterung werden höhere Aktivitäten erreicht. Bei alleiniger Verabreichung von Basisdiät bleibt die Enzymaktivität unverändert.

3.4.4.2.2. Skeletmuskel

Die Phosphorylaseaktivität der binephrektomierten im 10-stündigen Abstand gefütterten Tiere ändert sich mit der Versuchsdauer nicht, liegt jedoch in den ersten 40 Stunden über der der scheinoperierten Vergleichsgruppen. Verkürzung des Fütterungsintervalls führt nach Binephrektomie zum Abfall der Enzymaktivitäten nach 40 und 60 Stunden. Die Werte der scheinoperierten Kontrollen zeigen keine eindeutige Veränderung mit der Zeit. Unter Basisdiät ist die spezifische Aktivität 60 Stunden nach Binephrektomie oder Scheinoperation unter den Alaninvergleichswerten gelegen.

3.4.4.2.3. Anteil der Phosphorylase a an der Gesamtphosphorylase (Tabelle 8)

In der Leber der 10-Stunden-Alanin Tiere liegt der Anteil der aktivierten Phosphorylase a zwischen 27,4 und 30,1 % des Gesamtphosphorylasegehaltes. Bei den 5-Stunden-Tieren liegt am Anfang ein hoher Aktivierungsanteil vor, der sich mit zunehmender Versuchsdauer senkt.
Unter Basisdiät ist dieser Anteil am höchsten.
Im Muskel der Alanintiere ergeben sich folgende Muster. Die urämischen 10-Stunden-Tiere haben einen niedrigeren Anteil als die 5-Stunden-Tiere. Bei 10-stündigem Fütterungsintervall liegt in der Urämie ein niedrigerer Aktivierungsgrad als bei den scheinoperierten Kontrollen, und bei 5-stündlichem Abstand ein höherer vor.
Bei Basisdiät ist wie in der Leber mehr Phosphorylase a vorhanden.

3.4.4.3. Leber-Muskel-Verteilungsquotient

3.4.4.3.1. Phosphorylase a

Das Verteilungsmuster der urämischen Alanintiere gleicht sich und nimmt etwas mit der Zeit ab.
Der Wert A5S20 fällt aus dieser Reihe heraus, verursacht durch den niedrigen Muskelwert.

Unter Basisdiät zeigt sich eine stärkere Umverteilung zu Gunsten der Leber.

3.4.4.3.2. Gesamtphosphorylase

Auffallend ist der höhere Leberanteil bei Basisdiätfütterung. Sowohl bei den 10-Stunden als auch bei den 5-Stunden Alanintieren ist in der Urämie keine Veränderung mit der Zeit zu erkennen.

3.4.5. Glykogensynthetase-Aktivität

3.4.5.1. Glykogensynthetase I (aktive Form) (Tabelle 9)

3.4.5.1.1. Leber

Bei den binephrektomierten Alanintieren zeigt sich mit zunehmender Versuchsdauer keine wesentliche Aktivitätsänderung. Die scheinoperierten Kontrollen haben höhere Werte, besonders die Gruppen A5S40 und A5S60. Die 5-stündliche Fütterung ergibt bei akuter Urämie etwas höhere Aktivitäten, die allerdings nicht signifikant sind. Basisdiät, alleine gefüttert, führt zu vergleichbaren Werten.

3.4.5.1.2. Skeletmuskel

Bei den 10-stündlichen mit Alanin gefütterten Tieren führt die akute Urämie zu hohen Glykogensynthetase-I-Werten (40-Stunden-Wert: $17,9 \pm 4,9$ nMol x min^{-1} x mg^{-1}). Bei Verkürzung des Fütterungsintervalls auf 5 Stunden zeigt sich diese Erhöhung nur nach 20 Stunden, um dann auf das Niveau der scheinoperierten Kontrollen abzufallen.
Bei Basisdiätfütterung werden nach Binephrektomie nur geringere Aktivitäten erreicht, die im Bereich der scheinoperierten Vergleichsgruppen liegen. Nach 60 Stunden akuter Urämie verzeichnet man einen Aktivitätsabfall auf 0,94 nMol x min^{-1} mg^{-1}.

3.4.5.1.3. Leber-Muskel-Quotient

Bei Alaninfütterung verschiebt sich bei akuter Urämie das Verhältnis Leber -Muskel zu Gunsten der Muskulatur. Unter Basisdiätgabe zeigt sich keine derartige Verschiebung. Nach 60 Stunden kommt es nach Binephrektomie zu einem deutlichen Anstieg des Leber-Muskel-Quotienten, bedingt durch den drastischen Abfall der spezifischen Aktivität der Glykogensynthetase im Muskel.

3.4.5.2. Gesamtaktivität der Glykogensynthetase (D + I-Form) (Tabelle 10)

3.4.5.2.1. Leber

Die Werte der Glykogensynthetase D und I laufen den Veränderungen der Glykogensynthetase I im wesentlichen parallel. Zu erwähnen ist ein Aktivitätsmaximum zur 40. Stunde unter Basisdiät in beiden Gruppen.

3.4.5.2.2. Skeletmuskel

Auch im Skeletmuskel läuft die Aktivität des Gesamtenzyms, wie in der Leber, den Veränderungen der schon beschriebenen I-Form parallel.

3.4.5.2.3. Leber-Muskel-Quotient

Mit Dauer der akuten Urämie erhöht sich unter Basisdiät der Leber-Muskel-Quotient von 11,7 auf 88,4, während die Vergleichswerte nach Scheinoperation zwischen 17,3 und 52,3 liegen. Umgekehrt sind unter zusätzlicher Alaninapplikation die Leber-Muskel-Quotienten bei scheinoperierten Tieren höher als nach Binephrektomie.

3.5. Tabellen

Harnstoff-N im Serum (mg/dl)

	20 h	40 h	60 h
A10N	201,6 ± 6,8	339,0 ± 14,5	535,5 ± 21,6
A10S	25,4 ± 1,6	20,9 ± 3,3	34,9 ± 4,6
A 5N	194,4 ± 15,2	358,8 ± 36,0	615,5 ± 168,9
A 5N	18,6 ± 3,4	16,8 ± 0,4	19,3 ± 4,6
Ba10N	115,4 ± 16,5	302,5 ± 26,2	404,0 ± 18,7
Ba10S	24,6 ± 2,3	18,4 ± 5,0	19,5 ± 4,1

Tabelle 1: Verhalten des Harnstoff-N im Serum scheinoperierter und binephrektomierter Ratten unter Gabe von Basisdiät allein und in Kombination mit hohen Alanindosen (Mittelwerte ± SD)

Blutglukose (mg/dl)

	20 h	40 h	60 h
A10N	80,7 ± 2,3	100,0 ± 8,5	148,0 ± 54,4
A10S	90,0 ± 7,7	82,0 ± 37,7	78,4 ± 8,4
A 5N	104,4 ± 10,8	138,4 ± 15,6	170,0 ± 4,0
A 5S	100,4 ± 10,0	110,0 ± 17,7	101,0 ± 9,9
Ba10N	84,0 ± 14,9	88,0 ± 9,4	91,5 ± 10,7
Ba10S	110,0 ± 16,4	94,0 ± 18,0	96,0 ± 14,6

Tabelle 2: Verhalten der Blutglukose im Serum scheinoperierter Ratten und binephrektomierter Ratten unter der Gabe von Basisdiät allein und in Kombination mit hohen Alanindosen (Mittelwert ± SD)

Körpergewicht (g)

	n	KG_{Anfang} (g)	KG_{Ende} (g)	Δ KG (g)
A10N20	5	192,0 ± 6,7	188,4 ± 5,9	- 3,6
A10S20	5	170,2 ± 3,4	156,4 ± 1,1	-13,8
A10N40	5	178,6 ± 7,1	174,8 ± 5,2	- 3,8
A10S40	5	156,2 ± 6,1	144,6 ± 6,9	-11,6
A10N60	4	185,0 ± 8,2	180,0 ± 10,0	- 5,0
A10S60	5	176,4 ± 5,1	150,8 ± 4,0	-15,6
A 5N20	5	173,6 ± 6,4	170,7 ± 5,9	- 2,9
A 5S20	4	166,8 ± 3,6	159,3 ± 10,1	- 7,5
A 5N40	5	190,0 ± 6,0	186,6 ± 6,1	- 3,4
A 5S40	5	168,4 ± 2,7	151,4 ± 1,9	-17,0
A 5N60	4	191,8 ± 2,4	190,1 ± 2,3	- 1,7
A 5S60	4	163,8 ± 3,9	145,3 ± 7,0	-18,5
Ba10N20	6	181,2	178,2	- 3,0
Ba10S20	5	162,2	156,2	- 6,0
Ba10N40	5	183,3	179,3	- 4,0
Ba10S40	5	173,0	165,0	- 8,0
Ba10N60	5	189,4	185,3	- 4,3
Ba10S60	5	114,5	162,4	-12,1

Tabelle 3: Anzahl der Versuchstiere pro Gruppe und Verhalten des Gewichts am Anfang und am Ende des Versuchs (Mittelwert ± SD), sowie Gewichtsänderung während des Versuches.

Proteingehalt (mg/ml)

	Leber (L)	Muskel (M)	Muskel Leber %
A10N20	69,9 ± 22,9	15,4 ± 4,5	22,0
A10S20	61,3 ± 7,2	18,6 ± 4,1	30,3
A10N40	81,9 ± 13,6	15,1 ± 0,9	18,4
A10S40	76,0 ± 6,9	17,2 ± 1,9	22,6
A10N60	83,3 ± 13,6	15,1 ± 1,0	18,1
A10S60	65,7 ± 7,5	14,4 ± 1,5	21,9
A5N20	60,8 ± 11,3	13,8 ± 0,7	22,7
A5S20	58,6 ± 4,6	16,2 ± 8,3	27,6
A5N40	67,3 ± 15,9	12,7 ± 1,0	18,9
A5S40	53,3 ± 11,7	13,8 ± 0,7	25,8
A5N60	58,2 ± 18,3	12,5 ± 1,7	21,5
A5S60	53,7 ± 7,2	12,9 ± 4,5	24,0
Ba10N20	43,0 ± 7,4	16,9 ± 0,5	39,3
Ba10S20	53,7 ± 6,5	14,7 ± 1,1	27,4
Ba10N40	43,2 ± 1,1	20,8 ± 1,3	48,1
Ba10S40	51,2 ± 2,6	18,4 ± 2,2	35,9
Ba10N60	71,0 ± 5,6	14,9 ± 1,8	21,0
Ba10S60	74,3 ± 3,4	16,6 ± 0,9	22,3

Tabelle 4: Verhalten des Proteingehaltes von Muskel und Leber von scheinoperierten und binephrektomierten Ratten (Mittelwert ± SD), sowie die Verteilung zwischen Muskel und Leber

Gesamtkohlenhydratgehalt (GKH) (µg/mg)

	Leber (L)	Muskel (M)	Leber / Muskel %
A10N20	41,0 ± 26,5	194,7 ± 35,1	21,1
A10S20	40,4 ± 18,5	108,5 ± 7,1	37,3
A10N40	32,9 ± 18,4	200,7 ± 51,8	16,4
A10S40	36,9 ± 17,2	155,9 ± 65,6	23,7
A10N60	50,1 ± 21,5	177,8 ± 62,3	28,2
A10S60	91,8 ± 17,3	138,3 ± 37,0	66,3
A5N20	34,2 ± 16,5	131,2 ± 28,61	26,1
A5S20	37,5 ± 12,9	153,9 ± 59,8	24,4
A5N40	100,3 ± 25,7	177,0 ± 27,0	56,5
A5S40	86,3 ± 24,1	145,1 ± 26,1	59,5
A5N60	24,5 ± 6,1	225,7 ± 26,3	10,9
A5S60	126,4 ± 13,1	179,2 ± 51,7	70,5
Ba10N20	73,2 ± 37,9	Werte liegen nicht vor	
Ba10S20	58,0 ± 5,8		
Ba10N40	42,8 ± 2,6		
Ba10S40	65,2 ± 22,6		
Ba10N60	22,3 ± 11,2		
Ba10S60	74,8 ± 23,5		

Tabelle 5: Verhalten des Gesamtkohlenhydratgehaltes in Leber und Muskel scheinoperierter und binephrektomierter Ratten (Mittelwert ± SD), sowie die Verteilung zwischen Leber und Muskel

Glykogengehalt (µg/mg)

	Leber (L)	Muskel (M)	Leber / Muskel %
A10N20	0,24 ± 0,06	1,43 ± 0,62	16,8
A10S20	0,07 ± 0,02	0,29 ± 0,14	24,1
A10N40	0,26 ± 0,05	0,80 ± 0,20	32,5
A10S40	0,09 ± 0,05	0,20 ± 0,05	45,0
A10N60	0,33 ± 0,13	1,36 ± 0,60	24,3
A10S60	0,25 ± 0,11	0,96 ± 0,17	26,0
A5N20	1,59 ± 0,52	0,91 ± 0,34	174,7
A5S20	1,39 ± 0,63	1,04 ± 0,72	133,7
A5N40	3,63 ± 0,72	1,46 ± 0,49	248,6
A5S40	2,58 ± 0,87	0,65 ± 0,17	396,9
A5N60	3,49 ± 0,71	1,23 ± 0,39	283,7
A5S60	5,30 ± 4,30	0,95 ± 0,60	560,0
Ba10N20	0,42 ± 0,13	0,43 ± 0,13	97,8
Ba10S20	0,46 ± 0,21	0,45 ± 0,10	102,2
Ba10N40	0,32 ± 0,07	0,30 ± 0,02	106,7
Ba10S40	0,48 ± 0,13	0,28 ± 0,07	171,4
Ba10N60	0,17 ± 0,08	0,46 ± 0,11	37,0
Ba10S60	0,28 ± 0,05	0,28 ± 0,09	100,0

Tabelle 6: Verhalten des Glykogengehaltes in Leber und Muskel scheinoperierter und beinephrektomierter Ratten (Mittelwert ± SD) und die Verteilung zwischen Leber und Muskel

Phosphorylase a (nMol x min^{-1} x mg^{-1})

	Leber	Muskel	Leber / Muskel %
A10N20	103 ± 26,1	471 ± 106,4	21,8
A10S20	129 ± 14,1	250 ± 60,3	24,1
A10N40	88 ± 18,3	668 ± 124,7	13,2
A10S40	101 ± 13,8	647 ± 189,8	15,6
A10N60	80 ± 13,4	796 ± 133,3	10,0
A10S60	112 ± 17,3	1073 ± 379,6	10,5
A5N20	172 ± 45,0	748 ± 262,6	22,9
A5S20	234 ± 90,5	225 ± 79,9	103,9
A5N40	93 ± 17,1	768 ± 90,8	12,1
A5S40	138 ± 42,5	898 ± 159,4	15,4
A5N60	83 ± 16,1	708 ± 91,8	11,7
A5S60	103 ± 50,2	468 ± 163,5	22,0
Ba10N60	194 ± 57,5	1002 ± 133	19,4
Ba10S60	207 ± 52,9	654 ± 147	31,7

Tabelle 7: Verhalten der Phosphorylase a von scheinoperierten und binephrektomierten Ratten in Leber und Muskel (Mittelwert ± SD) und die Verteilung zwischen Leber und Muskel

Phosphorylase-Gesamtaktivität (nMol x min^{-1} x mg^{-1})

	Leber	$\frac{a}{a+b}$ %	Muskel	$\frac{a}{a+b}$ %	$\frac{\text{Leber}}{\text{Muskel}}$ %
A10N20	356 ± 119,5	28,9	3593 ± 119,5	13,1	9,0
A10S20	443 ± 56,4	29,1	1001 ± 268,8	25,0	44,3
A10N40	309 ± 44,0	28,5	3900 ± 325,1	17,1	7,9
A10S40	336 ± 21,3	30,1	1307 ± 219,1	49,5	25,7
A10N60	291 ± 34,2	27,4	3935 ± 283,0	20,2	7,4
A10S60	395 ± 57,0	28,4	3864 ± 628,3	27,8	10,2
A5N20	497 ± 71,2	35,6	4158 ± 649,6	18,0	12,0
A5S20	591 ± 50,7	40,0	2076 ± 816,8	10,8	28,5
A5N40	627 ± 180,8	14,8	2420 ± 155,8	31,7	25,9
A5S40	613 ± 103,6	22,5	4130 ± 372,7	21,8	14,8
A5N60	374 ± 89,0	22,1	2925 ± 276,4	24,2	12,7
A5S60	582 ± 73,9	17,7	2620 ± 650,6	17,9	22,4
Ba10N60	313 ± 28,1	62,0	2310 ± 431,0	43,4	13,5
Ba10S60	315 ± 76,7	65,8	1993 ± 333,0	32,8	15,8

Tabelle 8: Verhalten der Gesamtaktivität der Phosphorylase von scheinoperierten und binephrektomierten Ratten in Leber und Muskel, die Verteilung zwischen Leber und Muskel und der Anteil der Phosphorylase a an der Gesamtaktivität

Glykogensynthetase I (aktive Form)
(nMol x min^{-1} x mg^{-1})

	Leber	Muskel	Leber / Muskel %
A10N20	0,52 ± 0,18	13,46 ± 4,47	3,9
A10S20	1,04 ± 0,23	1,09 ± 0,25	95,4
A10N40	0,56 ± 0,18	17,93 ± 4,88	3,1
A10S40	0,83 ± 0,20	4,83 ± 0,55	17,2
A10N60	0,56 ± 0,12	12,39 ± 3,84	4,5
A10S60	0,69 ± 0,23	8,76 ± 1,88	7,9
A5N20	0,61 ± 0,09	11,10 ± 2,20	5,5
A5S20	0,64 ± 0,10	2,21 ± 1,05	29,0
A5N40	0,76 ± 0,28	2,65 ± 0,15	28,7
A5S40	3,88 ± 1,22	5,09 ± 0,82	76,2
A5N60	0,62 ± 0,25	2,83 ± 0,69	22,0
A5S60	2,99 ± 1,11	2,64 ± 1,38	113,3
Ba10N20	0,52 ± 0,10	5,54 ± 3,24	9,4
Ba10S20	0,66 ± 0,10	6,36 ± 2,23	10,4
Ba10N40	0,92 ± 0,40	4,04 ± 2,39	22,7
Ba10S40	0,86 ± 0,17	3,35 ± 2,38	25,7
Ba10N60	0,68 ± 0,12	0,94 ± 0,47	72,3
Ba10S60	0,92 ± 0,31	4,48 ± 2,47	20,5

Tabelle 9: Verhalten der Glykogensynthetase I von scheinoperierten und binephrektomierten Ratten (Mittelwert ± SD) und Verteilung zwischen Leber und Muskel

Gesamtaktivität der Glykogensynthetase (D+I-Form)
nMol x min^{-1} x mg^{-1}

	Leber	Muskel	Leber / Muskel %
A10N20	1,06 ± 0,38	16,56 ± 4,93	4,6
A10S20	1,57 ± 0,30	2,68 ± 0,57	58,6
A10N40	0,95 ± 0,18	21,11 ± 5,01	4,5
A10S40	1,37 ± 0,18	7,28 ± 0,69	18,8
A10N60	0,84 ± 0,26	15,31 ± 3,88	5,5
A10S60	1,27 ± 0,14	12,06 ± 1,98	10,5
A5N20	0,98 ± 0,20	16,40 ± 2,57	6,0
A5S20	1,23 ± 0,19	4,21 ± 1,77	29,2
A5N40	1,32 ± 0,55	3,83 ± 0,52	34,5
A5S40	4,35 ± 1,41	7,28 ± 0,65	54,7
A5N60	1,06 ± 0,28	4,28 ± 1,00	25,0
A5S60	3,97 ± 1,19	4,05 ± 2,03	98,0
Ba10N20	0,78 ± 0,19	6,64 ± 1,53	11,7
Ba10S20	1,32 ± 0,22	7,62 ± 2,02	17,3
Ba10N40	1,72 ± 0,14	4,66 ± 1,32	36,9
Ba10S40	2,42 ± 0,38	4,63 ± 0,99	52,3
Ba10N60	0,99 ± 0,17	1,12 ± 0,37	88,4
Ba10S60	1,66 ± 0,29	6,13 ± 1,23	27,1

Tabelle 10: Verhalten der Gesamtaktivität der Glykogensynthetase von scheinoperierten und binephrektomierten Ratten (Mittelwert ± SD) sowie Verteilung zwischen Leber und Muskel

Quotient Anfangskörpergewicht/Proteingehalt

	Leber	Muskel
A10N20	2,75	12,47
A10S20	2,78	9,15
A10N40	2,18	11,83
A10S40	2,06	9,08
A10N60	2,22	12,25
A10S60	2,68	12,25
A5N20	2,86	12,58
A5S20	2,85	10,30
A5N40	2,82	14,96
A5S40	3,16	12,20
A5N60	3,30	15,34
A5S60	3,05	12,70
Ba10N20	4,21	10,72
Ba10S20	3,02	11,03
Ba10N40	4,24	8,81
Ba10S40	3,38	9,40
Ba10N60	2,68	12,71
Ba10S60	2,35	10,51

Tabelle 11: Quotient aus Anfangsgewicht und Proteingehalt von Leber bzw. Muskel

4. DISKUSSION

Die meisten Aminosäuren werden bei katabolen Stoffwechselzuständen durch Proteolyse aus der Skeletmuskulatur freigesetzt, von ihnen sind jedoch Alanin und Glutamin mit mehr als 50 % der totalen Aminosäuremenge bei weitem am bedeutendsten (23). Glutamin wird von der Niere aufgenommen, seine Stickstoffgruppen für die Ammoniakproduktion verwendet (102). Über die Aufnahme im Darmtrakt dient diese Aminosäure als bedeutender Energiedonator (103, 104). Umgekehrt setzen sowohl Niere als auch der Darmtrakt kleine Mengen an Alanin frei, die zusammen mit den aus dem Muskel abgegebenen Alanin von der Leber aufgenommen und in Glukose umgewandelt werden (22). Unterschiedliche Auffassungen bestehen über die Herkunft des aus dem Muskel freigesetzten Alanin und Glutamin. Da Alanin und Glutamin nur etwa 10 % der Aminosäurereste im Muskel ausmachen, wurde für die hohe muskuläre Abgabe dieser Aminosäuren eine de novo Synthese im Skeletmuskel als wahrscheinlich angenommen. Felig et al. (16) und Malette et al. (38) haben vermutet, daß das Kohlenhydratskelet des Alanin von zirkulierender Glukose herrührt. Garber et al. (27) sowie Goldstein und Newsholme (30) nahmen an, daß die überwiegende vom Muskel synthetisierte Alaninmenge nicht von Glukose, sondern aus anderen Aminosäuren gebildet wird, die durch den Abbau von endogenem Muskelprotein freiwerden. In vitro und in vivo Studien haben gezeigt, daß Alanin durch Transaminierung von Pyruvat gebildet wird (105). Chang und Goldberg (106) konnten dokumentieren, daß über 97 % des Alanin und Pyruvat, freigesetzt aus Rattenmuskulatur, aus exogener Glukose und nicht von endogenem Proteinabbau herstammen. Die Stickstoffquelle für die Alaninbildung stellen die verzweigtkettigen Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin dar. Nach Aufnahme in die Leber wird Alanin rasch in Glukose umgewandelt. Alanin ist einmal hauptsächlich verantwortlich für die Stickstoffreisetzung aus der Muskulatur und ist quantitativ die wichtigste Aminosäure für die hepatische Glukoneogenese. Fröhlich et al. (107) haben in Leberperfusionsversuchen mit Aminosäuren als Substrat eine enge Parallelität zwischen

Glukosebildung und Harnstoffsynthese aufzeigen können. Wir fanden nach Alaningabe einen Anstieg des Harnstoff-N auf 535 mg/dl 60 Stunden nach Binephrektomie bei 10-stündlichem Fütterungsintervall. Dagegen lagen die Vergleichswerte unter alleiniger Zufuhr einer proteinarmen, hochkalorischen Diät bei 404 mg/dl. Der durch Alanin induzierte Anstieg des Harnstoff-N könnte einmal Folge der gesteigerten Glukoneogenese sein, zum anderen durch den zusätzlich zugeführten Aminosäurestickstoff bedingt sein. Zumindest ein Teil des zugeführten Alanin wird oxydiert und führt zur Steigerung der Harnstoff-N-Synthese. Dies läßt sich aus der Beobachtung von Chochinov et al. (24) erwarten, der einige Stunden nach Infusion von markierten Alanin, bereits 40 % als CO_2 vorfand. Gegen eine durch Glukoneogenese bedingte Erhöhung des Harnstoff-N 60 Stunden nach Binephrektomie durch die hochdosierte Gabe von Alanin sprechen Befunde von Kittel (13), der unter Verfütterung vergleichbarer Konzentrationen von Leucin, einer nicht glukoplastischen Aminosäure, einen Anstieg des Harnstoff-N auf 662 mg/dl fand. Die Verkürzung des Fütterungsintervalls auf 5 Stunden führte nach Leucingabe zu einer Senkung des Plasmaharnstoff-N auf 473 mg/dl, ein Effekt, der unter Alaningabe ausblieb. Wir beobachteten einen Harnstoff-N-Anstieg auf 616 mg/dl. (Vergleiche Tabelle 1)

Da bei kataboler Stoffwechsellage im Muskelgewebe eine negative Stickstoffbilanz besteht, hängt die Repletion des Muskelstickstoffs von einer Netto-Aufnahme von Aminosäuren nach Eiweißzufuhr ab.
Unter Fütterung von Alanin in 5- und 10-Stunden-Intervallen ergaben sich nach operativem Stress und Binephrektomie keine sicheren Veränderungen des Leber- und Muskelproteingehalts im Vergleich zur eiweißarmen Basisdiät allein.
Diese Befunde stimmen mit der Tatsache überein, daß Alanin eine glukoplastische Aminosäure ist, und nicht zur Stimulierung der Proteinsynthese beiträgt. Im Gegensatz zu Alanin führt die Substitution von Leucin zu einer mehr als zweifachen Steigerung der Leber- und Muskelproteinsynthese

nach Binephrektomie (13). Da der Quotient aus Protein und Anfangsgewicht annähernd als Konstante imponiert, (siehe Tabelle11) kann man daraus schließen, daß der Proteingehalt weniger von den Veränderungen der Urämie, des operativen Stresses oder des absorptiven Status bestimmt ist, als vielmehr vom Anfangsgewicht der Ratten. Der erwartete Proteinverlust (108) kann aus den vorliegenden Zahlen nicht bestätigt werden. Auf Grund der kurzen Überlebenszeit der Tiere kam Boucot (93) zu der Feststellung, daß die experimentell erzeugte akute Urämie zu schnell ablaufe, um urämiespezifische Veränderungen erkennen zu können. Allerdings lassen sich schon nach kurzer Urämiedauer urämiespezifische Effekte nachweisen (12, 13, 14, 45, 48).

Nach Aufnahme einer Proteinmahlzeit kommt es beim Gesunden vor allem zu einem deutlichen Anstieg der Plasmawerte verzweigtkettiger Aminosäuren, während die Plasmakonzentration von Alanin unverändert bleibt. Normale Plasmaalaninkonzentrationen bei nüchternen, urämischen Patienten sind von Kopple und Jones beschrieben (46). Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz fanden auch DeFronzo und Felig (47) normale Plasmaalaninkonzentrationen. Dagegen ist ein deutlicher Abfall der Plasmaalaninwerte bei Diabetikern bekannt (109). Die hepatische Aufnahme von Alanin ist bei Niereninsuffizienz ähnlich oder etwas geringer als die gesunder Kontrollen (47). Bei Leberperfusionsversuchen fand zwar Lacy (48) eine schnelle Aufnahme von Alanin sowohl bei urämischen als auch bei normalen Rattenlebern, eine Steigerung bei akuter Urämie konnte er jedoch nicht feststellen. Wiederum stehen diese Daten im Gegensatz zu der bei Diabetikern zweifach erhöhten hepatischen Alaninextraktion (47). Eine vermehrte hepatische Glukoneogenese aus Alanin kann demnach nicht für die beim Urämiker bekannte Glukoseintoleranz verantwortlich gemacht werden. Denkbar wäre ein beschleunigter intrahepatischer Shunt von Alanin in die Glukoneogenese bei Urämie. Dessen Ausmaß müßte jedoch extrem groß sein, um in Annäherung die erhöhten hepatischen Glukoneogeneseraten des Diabetikers auch bei Niereninsuffizienz zu erreichen. Gegen die Wahr-

scheinlichkeit dieses Shunts sprechen auch Daten von DeFronzo et al. (51, 110), daß die basale Blukosebildung bei niereninsuffizienten Patienten nicht erhöht ist. Darüber hinaus ist die Glukosebildung bei Niereninsuffizienz durch einen physiologischen Anstieg der Plasmainsulinkonzentration vollständig supprimierbar (51, 110). Solch eine komplette Inhibierung der hepatischen Glukosebildung ließe sich nicht erzielen, wenn die Alanin-induzierte Glukoneogenese bei Niereninsuffizienz erhöht wäre, da pharmakologische Erhöhungen der Plasmainsulinkonzentration (> 200 uU/ml) erforderlich sind, um diesen Anteil der hepatischen Glukosebildung zu supprimieren (111). Durch die simultane Infusion radioaktiv markierten Alanins und markierter Glukose glaubten Rubenfeld und Garber (112) eine erhöhte Glukoneogenese aus Alanin durch einen Anstieg der hepatischen Glukosebildung bei Patienten mit Niereninsuffizienz nachweisen zu können. Diese Daten widersprechen Untersuchungen von DeFronzo et al. (51, 110) unter Verwendung von ^{3}H-3-Glukose als Substrat. Die falsch positiven, hohen Alanineffekte bei Niereninsuffizienz (112) lassen sich durch ineffektive Stoffwechselzyklen erklären, die bei zweifach markierter Glukose einen erhöhten Glukoseturnover vortäuschen.

Jedoch sind bei nächternen niereninsuffizienten Patienten Hyperglykämien seit langem bekannt (49, 62), ebenso bei experimentell erzeugter Urämie (45, 50, 51, 113). Dabei soll nach Reaven und Reaven (113) der Verlust von effektiven Nierenparenchym bei Urämie Hypoglykämien begünstigen. Wir fanden bis zu 60 Stunden nach Binephrektomie unter Gabe einer proteinarmen, hochkalorischen Diät normoglykämische Werte. Dagegen bewirkt die zusätzliche Applikation von Alanin einen Anstieg der Blutglukosewerte auf 148 mg/dl 60 Stunden nach Binephrektomie bei 10-stündlichem Fütterungsintervall, wobei sich die Vergleichswerte nach Verkürzung des Fütterungsabstandes durch die zeitliche Nähe zum Resorptionsoptimum auf 170 mg/dl erhöhten. Da scheinoperierte Vergleichsratten normale Blutglukosewerte zeigten, könnte an einer Alanin-induzierten Stimulierung der Glukoneogenese gezweifelt werden. Maier et al. (114) konnten jedoch bereits 48 Stunden nach Binephrektomie eine mehr als 5-fach höhere hepatische Alaninkonzentration im Vergleich zu scheinoperierten Kontrollen

nachweisen, so daß die Alanin-induzierte, gesteigerte hepatische Glukoneogenese weiterhin als Grund für die Hyperglykämie unter Alaninsubstitution in Betracht gezogen werden kann. Eine erhöhte hepatische Glukoneogenese läßt allerdings auch eine vermehrte Glykogenbildung erwarten. Unter den Bedingungen der akuten Urämie finden wir aber sowohl bei der Fütterung von Basisdiät alleine, als auch bei Zusatz von Alanin Leberglykogenwerte, die denen scheinoperierter Kontrolltiere gleichen, jedoch deutlich unter den Werten nicht operierter Ratten liegen (115). Es läßt sich also in der Leber kein sicherer Alanin-Effekt auf die Glykogenbildung nachweisen. Von chronisch urämischen Patienten (96), ebenso von chronisch urämischen Ratten (94) werden normale Leberglykogenkonzentrationen berichtet. Bei chronisch urämischen Ratten wurden aber auch erniedrigte Glykogenwerte gemessen (116). Wie DeFronzo et al. (62) und Dzurik (117) bereits diskutierten, ist der Glykogengehalt von der ausreichenden kalorischen Ernährung und der Zeit nach der Nahrungsaufnahme stark beeinflußt. So führt auch die Verkürzung des Fütterungsabstandes auf 5 Stunden zu höheren Glykogenwerten. Im Muskel von chronisch urämischen Ratten wurde ein normaler oder leicht erhöhter Glykogengehalt gefunden (88). Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen von Feinnadelpunktionen bei chronisch urämischen Patienten überein, bei denen normale Werte gemessen wurden (118). Patienten, die als Folge einer schwierigen Operation an akutem Nierenversagen erkrankten, zeigten erniedrigte Glykogenspiegel, bis auf zwei dialysierte Patienten, bei denen normale Werte vorlagen (118). Der Autor läßt die Frage offen, ob dieser niedrige Glykogenwert Folge der Urämie oder der katabolen Stoffwechselsituation ist, die zum Nierenversagen geführt hat.
Weitere Einflußgrößen, wie die Zeit post cenam und Kaloriengehalt der Nahrung, sind nicht angegeben.
Im Muskel akut urämischer Ratten finden wir bei 10-stündlichem Fütterungsintervall bei Gabe von Alanin einen höheren Glykogengehalt als bei den scheinoperierten Kontrollen und den mit Basisdiät allein gefütterten Tieren. Der Veränderung des Glykogens läuft das Verhalten des Gesamtkohlenhydratgehaltes parallel. Dieser Effekt von Alanin auf den Muskel

ist überraschend, da primär Auswirkungen auf den Leberglykogenhaushalt zu erwarten wären. Vergleichbar anabole Effekte auf die Glykogensynthese durch eine einzelne glukoplastische Aminosäure sind auch durch Serin erzielbar (12). Das Überangebot an Alanin, gekoppelt mit der verminderten oder normalen Aufnahme von Alanin in die Leber (47) führt in der Muskulatur zur Steigerung der Glykogensynthetasesynthese nach 10 Stunden; 5 Stunden nach Fütterung ist dieser Effekt noch nicht zu beobachten. Wir erhalten Werte, die im Bereich der Kontrollen liegen. Die Aktivität der Phosphorylase a zeigt keine wesentlichen Unterschiede zu den Vergleichsgruppen. Es ist auch keine Änderung erkennbar, die den unterschiedlichen Glykogengehalt erklären könnte. Vergleicht man die Aktivität der Synthetase I mit der der Phosphorylase a, so sieht man, daß die Potenz der Phosphorylase a Glykogen abzubauen, die Synthesegeschwindigkeit der Glykogensynthetase I übertrifft.
HEILMEYER und HASCHKE (119) berichteten über diese Diskrepanz zwischen in vitro und in vivo Aktivitäten der Phosphorylase a. Sie diskutierten weitere Faktoren, die neben der Phosphorylierung zur Aktivierung und zur Regulation der Phosphorylase und somit des Glykogenabbaus beitragen. Daraus wird erklärlich, daß wir unterschiedliche Glykogenkonzentrationen messen, ohne entsprechende Aktivitätsänderungen der Phosphorylase a zu beobachten. Der positive Effekt des Alanin auf den Muskelglykogengehalt zeigt sich auch im Verteilungsmuster zwischen Leber und Muskel. Während bei 5-stündlicher Fütterung mit Alanin sowohl bei scheinoperierten, als auch bei binephrektomierten Ratten der Glykogengehalt der Leber den des Muskels übersteigt, wird bei 10-stündlichem Intervall das Verhältnis umgekehrt. Unter Basisdiät entspricht der Leberglykogengehalt dem des Muskels. Daraus kann man folgern, daß Alanin der Verminderung des Muskelglykogens entgegenwirkt. Insgesamt belegen unsere Untersuchungen, daß unter der hochdosierten Gabe von Alanin günstige Effekte auf den Glykogenstoffwechsel vor allem in der Muskulatur erzielt werden können, daß aber die Anwendung von Alanin durch die gesteigerte Harnstoffsynthese und die Hyperglykämie bei akuter Urämie limitiert ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An bilateral nephrektomierten Ratten und deren scheinoperierten Kontrollen wurde der Einfluß einer hochkalorischen, proteinarmen Diät mit und ohne zusätzlicher Applikation von Alanin bei 5- und 10-stündlichem Fütterungsintervall auf den Glykogenstoffwechsel von Muskel und Leber studiert. Ferner wurden Blutglukose, Harnstoff-N und Gewicht kontrolliert. Folgende Ergebnisse wurden erarbeitet:

1) Hochdosierte Alaningabe nach Binephrektomie führt im Vergleich zu den scheinoperierten Kontrollen zu Blutglukoseerhöhungen von maximal 170 mg/dl, während Fütterung von Basisdiät alleine keine Steigerung der Blutglukose hervorruft.
2) Unter Alaningabe wird die Harnstoff-N-Synthese bei Binephrektomie gesteigert.
3) In der Leber läßt sich bei akuter Urämie und operativem Stress keine Stimulation des Alanin auf die Glykogensynthese feststellen.
4) In der Muskulatur verhindert Alanin bei akuter Urämie den Abbau des Glykogen bei 10-stündlichem Fütterungsintervall.
5) Dieser Alanineffekt wird durch eine Steigerung der Glykogensynthetasesynthese verursacht, während das abbauende Enzym Phosphorylase in seiner spezifischen Aktivität nicht sicher verändert ist.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1) Heinze, V.:
Das akute Nierenversagen, Nierenkrankheiten von H. Sarre
Thieme-Verlag, Stuttgart, 425, 1976

2) Rittmeyer, P.:
Klinische Probleme der parenteralen Ernährung. Die Bausteine der parenteralen Ernährung, hrsg. von H. Beisbarth, K. Horatz, P. Rittmeyer, Enke-Verlag, Stuttgart, 1973

3) Held, E., Edmaier, M.A.:
Therapie des akuten Nierenversagens: Pathophysiologie und klinische Aspekte. INA: Band 14 Akutes Nierenversagen, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1979

4) Bailie, M.D., Rector, F.C., Seldin, D.W.:
Angiotensin II in arteria and venous plasma and renal lymph in the dog.
J. Clin. Invest. 50, 119, 1971

5) Bässler, K.H.:
Die Rolle der Kohlenhydrate in der parenteralen Ernährung.
Z. Ernährungswiss., Suppl. 10, 57, 1971

6) Munro, U.R. :
Influence of protein and amino acid supply on tissue fuction and metabolism.
Anaesthesiologie und Wiederbelebung, 58, 20, 1972

7) Waterlow, J.C.:
The assessment of protein nutrition and metabolism in the whole animal, with special references to man. Mammalian Protein

Metabolism, Bd. III, hrsg. von H.N. Munro, Academic Press, New York, 1969

8) Abel, R.M., Beck, C.H., Abott, W.M., Ryan, J.A., Banett, G.O., Fischer, J.E.:
Improved survival from acute renal failure after treatment with intravenous essential amino acids and glucose.
New England J. Med. 288, 695, 1973

9) Walser, M., Sapir, D.G., Maddrey, W.C.:
The use of α-keto analogues of essential amino acids. Total Parenteral Nutrition, hrsg. von J.E. Fischer, Little, Brown and Company, Boston, 1976

10) Dudrick, S.J., Steiger, E., Long, J.M.:
Renal failure in surgical patients. Treatment with intravenous essential amino acids and hypertonic glucose.
Surgery 68, 180, 1970

11) Bauerdick, H., Spellerberg, P., Lamberts, B.:
Therapy with essential amino acids and their nitrogen-free analogues in severe renal failure.
Am.J. Clin. Nutr. 31, 1793, 1978

12) Schlenck, G.:
Doktorarbeit, Universität Würzburg, 1980

13) Kittel, R.:
Doktorarbeit, Universität Würzburg, 1980

14) Link, M.:
Doktorarbeit, Universität Würzburg, 1980

15) London, D.R., Foley, T.H., Webb, C.G.:
Evidence for the release of individual amino acids from the resting human forearm.
Nature 208, 588, 1965

16) Felig, P., Prozefsky, T., Marliss, E., Cahill, G.F. Jr.:
Alanine: Key role in gluconeogenesis.
Science 167, 1003, 1970

17) Prozefsky, T., Felig, P., Tobin, J., Soeldner, J.S., Cahill, G.F. Jr.:
Amino acid balance across tissues of the forearm in postabsorptive man.
Effects of insulin in two dose levels.
J. Clin. Invest. 48, 2273, 1969

18) Marliss, E.B., Aoki, T.T., Prozefsky, T., Most, A.S., Cahill, G.F. Jr.:
Muscle and splanchnic glutamine and glutamate metabolism in postabsorptive and starved man.
J. Clin. Invest. 50, 814, 1971

19) Felig, P., Wahren, J.:
Amino acid metabolism in exercising man.
J. Clin. Invest. 50, 2703, 1971

20) Felig, P., Wahren, J., Raf, L.
Evidence of inter-organ amino acid transport by blood cells.
Proc. Nat. Acad. Sci. 70, 1775, 1973

21) Carlsten, A., Hallgren, B., Jagenburg, R., Svanborg, A., Werko, L.:
Arterio-hepatic venous differences of free fatty acids and amino acids.
Studies in patients with diabetes or essential hypercholesterinaemia and in healthy individuals.
Acta Med. Scand. 118, 199, 1967

22) Felig, P., Owen, O.E., Wahren, J., Cahill, G.F. Jr.:
Amino acid metabolism during prolonged starvation.
J. Clin. Invest. 48, 584, 1969

23) Felig, P., Wahren, J.:
Amino acid metabolism in man.
Annu. Rev. Biochem. 44, 933, 1975

24) Chochinov, R.H., Perlman, K., Moorhouse, J.A.:
Circulating alanin production and disposal in healthy subjects.
Diabetes 27, 287, 1978

25) Miller, L.L.:
Amino acid pools, Holden, J.D. Ed.
Elsevier, Amsterdam, 1961

26) Manchester, K.L.:
Oxidation of amino acids by isolated rat diaphragm and the influence of insulin.
Biochim. Biophys. Acta 100, 295, 1965

27) Garber, A.J., Karl, I.E., Kipnis, D.M.:
Alanine and glutamine synthesis and release from skeletal muscle.
I) Glycolysis and amino acid release.
J. Biol. Chem., 251, 826, 1976

28) DeRosa, G., Swick, R.W.:
Metabolic implications of the distribution of the alanine-aminotransferase isoenzymes.
J. Biol. Chem. 250, 7961, 1975

29) Garber, A.J., Karl, I.E., Kipnis, D.M.:
Alanine and glutamine synthesis and release from skeletal muscle.
II. The precursor role of amino acids in alanine and glutamine synthesis.
J. Biol. Chem. 251, 836, 1976

30) Goldstein, L., Newsholme, E.A.:
The formation of alanine from amino acids in diaphragm muscle of rat.
J. Biochem. 154, 555, 1976

31) Garber, A.J., Karl, I.E., Kipnis, M.D.:
Carbon sources of alanine and glutamine released by skeletal muscle.
J. Clin. Invest. 52, 319, 1973

32) Ruderman, N.D., Berger, M.:
The formation of glutamine and alanine in skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 249, 5500, 1974

33) Odessey, R., Khairallah, E.A., Goldberg, A.L.:
Origin and possible significance of alanine production by skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 249, 7623, 1974

34) Felig, P.:
The glucose-alanine cycle.
Metabolism 22, 179, 1973

35) Dieterle, P., Brawand, F., Moser, U.K., Walter, P.:
Alanine metabolism in rat liver mitochondria.
Eur. J. Biochem. 88, 467, 1978

36) Exton, J.H.:
Progress in endocrinology and metabolism. Gluconeogenesis
Metabolism, 21, 945, 1972

37) Harper, H.A., Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss, L.:
Physiologische Chemie.
Berlin, Heidelberg, New York 1975, Springer-Verlag

38) Malette, L.E., Exton, J.H., Park, C.R.:
Control of gluconeogenesis from amino acids in the perfused rat liver.
J. Biol. Chem. 244, 5713, 1969

39) Kreisberg, R.A., Siegal, A.M., Owen, W.C.:
Alanine and gluconeogenesis in man: effects of ethanol.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 34, 876, 1972

40) Garber, A.J.:
Skeletal muscle protein and amino acid metabolism in experimental chronic uremia in the rat.
Accelerated alanine and glutamine formation and release.
J. Clin. Invest. 62, 623, 1978

41) Condon, J.R., Satoor, A.M.:
Amino acid metabolism in uremic patients.
Clin. Chim. Acta, 32, 333, 1971

42) Ganda, O P., Aoki, T.T., Soeldner, J.S., Morrison, R.S., Cahill, G.F. Jr.:
Hormone fuel concentrations in anephric subjects: Effects of hemodialysis (with special references to amino acids)
J. Clin. Invest. 57, 1403, 1976

43) Garber, A. J.:
The regulation of skeletal muscle alanine and glutamine formation and release in experimental chronic uremia in the rat.
J. Clin. Invest. 62, 633, 1978

44) Dzurik, R., Niederland, T.R., Cernacek, P.:
Carbohydrate metabolism by rat liver slices incubated in serum obtained from uremic patietns.
Clin. Sci. 37, 409, 1969

45) Fröhlich, J., Schölmerich, J., Hoppe-Seyler, G., Maier, K.P., Talke, H., Schollmeyer, P., Gerok, W.:
The effect of acute uremia on gluconeogenesis in isolated perfused rat livers.
Eur. J. Clin. Invest. 4, 453, 1974

46) Kopple, J.D., Jones, M.R.:
Amino acid metabolism in patients with advanced uremia and in patients under going chronic dialysis. Advances in Nephrology, Chicago: Year Book Medical Publishers, Inc., 8, 233, 1979

47) DeFronzo, R.A., Felig, P.:
Amino acid metabolism in uremia: insights gained from normal and diabetic man.
Am. J. Clin. Nutr. 33, 1378, 1980

48) Lacy, W.W.:
Uptake of the individual amino acids by perfused rat liver. Effekt of acute uremia.
Am. J. Physiol. 219, 649, 1970

49) Lowrie, E.G., Soeldner, J.S., Hampers, C.L., Merrill, J.P.:
Glucose metabolism and insulin secretion in uremic, prediabetic and normal subjects.
J. Lab. Clin. Med. 76, 603, 1970

50) Perkoff, G.T., Thomas, C.L., Newton, J.D., Sellman, J.C., Tyler, F.H.:
Mechanism of impaired glucose tolerance in uremia and experimental hyperazotemia.
Diabetes 7, 375, 1958

51) DeFronzo, A., Tobin, J.D., Rowe, J.W., Andres, R.:
Glucose intolerance in uremia: Quantification of pancreatic beta cell sensitivity to glucose and tissue sensitivity to insulin.
J. Clin. Invest. 62, 425, 1978

52) Westervelt, F.B.:
Abnormal carbohydrate metabolism in uremia
Am. J. Clin. Nutr. 31, 423, 1968

53) Westervelt, F.B.:
Uremia and insulin response.
Arch. Intern. Med. 74, 79, 1970

54) Westervelt, F.B.:
Insulin effect in uremia
J. Lab. Clin. Med. 126, 79, 1969

55) Cerletty, J.M., Engbring, H.H.:
Azotemia and glucose intolerance
Ann. Intern. Med. 66, 1097, 1967

56) Horton, E.S., Johnson, C., Lebevitz, H.E.:
Carbohydrate metabolism in uremia
Ann. Intern. Med. 68, 63, 1968

57) Hutchings, R.H., Heystrom, R.M., Scribner, B.H.:
Glucose intolerance in patients on long term intermittent dialysis.
Ann. Intern. Med. 65, 275, 1966

58) Spitz, I.M.A., Rubenstein, A.H., Beroon, I., Abrahams, C., Lowry, C.:
Carbohydrate metabolism in renal disease.
Q. J. Med. 39, 201, 1970

59) Freeman, R.M., Samaan, N.A.:
Growth hormone and insulin response to glucose in dialysis patients.
Clin. Res. 15, 434, 1967

60) Samaan, N.A., Freeman, R.M.:
Growth hormone levels in severe renal failure.
Metabolism 19, 102, 1970

61) Wright, A.D., Lowry, C., Fraser, T.R., Spitz, I.M., Rubenstein, A.H., Behrson, I.:
Serum-growth hormone and glucose intolerance in renal failure.
Lancet, 2, 798, 1968

62) DeFronzo, R.A., Andres, R., Edgar, P., Walker, W.G.:
Carbohydrate Metabolism in uremia: A review.
Medicine 52, 469, 1973

63) Bilbrey, G.L., Faloona, G.R., White, M.G., Knoche, J.P., Borroto, J.:
Hyperglucagonemia of renal failure.
J. Clin. Invest. 53, 841, 1974

64) Garrison, J.C., Haynes, R.C. Jr.:
Hormonal Control of glycogenolysis and gluconeogenesis in isolated rat liver cells.
J. Biol. Chem. 248, 5333, 1973

65) Exton, J.H., Park, C.R.:
Control of gluconeogenesis in liver.
II. Effects of glucagon, catecholamines and adenosin 3', 5'-monophosphate on gluconeogenesis in the perfused rat liver.
J. Biol. Chem. 243, 4189, 1968

66) Michio, U., Claus, T.H., Exton, J.H., Park, C.R.:
Studies on the mechanism of action of glucagon on gluconeogenesis.
J. Biol. Chem. 248, 5344, 1973

67) Walsh, D.A., Brostrom, C.O., Brostrom, M.A., Chen, L.,
Corbin, J.D., Reimann, E., Soderling, T.R., Krebs, E.G.:
Cyclic-AMP-dependent protein kinases from skeletal muscle and liver.
Adv. Cycl. Nucl. Res. 1, 33, 1972

68) DeLang, R.J., Kemp, R.G., Riley, W.D., Cooper, R.A., Krebs, E.G.:
Activation of skeletal muscle phosphorylase kinase by adenosine
triphosphate and adenosine 3', 5'-monophosphate.
J. Biol. Chem. 243, 2200, 1968

69) Posner, J.B., Stern, R., Krebs, E.G.:
Effects of electric stimulation and epinephrine on muscle phosphorylase
phosphorylase b kinase and adenosine 3', 5'-phosphate.
J. Biol. Chem. 240, 982, 1965

70) Hörl, W.H., Heilmeyer, L.M.G. Jr.:
Regulation der Ca^{2+}-Transport-ATPase des sarkoplasmatischen Retikulums durch eine Ca^{2+}-abhängige Proteinkinase, eine Protein-Phosphatase und deren Effektoren.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 358, 250, 1975

71) Jenissen, H.P., Hörl, W.H., Gröschel-Stewart, U., Heilmeyer, L.M.
G. Jr.:
Localization and turnover of phosphorylase-kinase in rabbit skeletal muscle
4 th Int. Symp. on Metabolic Interconversions of Enzymes Arad 1975,
ed. S. Shaltiel, Berlin, Heidelberg, New York Springer-Verlag, p. 19

72) Fischer, E.H., Krebs, E.G.:
The isolation and crystallization of rabbit skeletal muscle phosphorylase b.
J. Biol. Chem. 231, 65, 1958

73) Hörl, W.H., Heimeyer, L.M.G. Jr.:
Effect of a Ca^{2+}-dependet proteinkinase and a proteinphosphatase on the Ca^{2+}-phosphate transport ATPase.
2nd Workshop on Phosphate, Heidelberg
ed. Massry, S.G. Plenum Publishing Co. 385, 1977

74) Fischer, E.H., Heilmeyer, L.M.G. Jr., Haschke, R.H.:
Phosphorylase and the control of glycogen degradation
Curr. Top. Cell. Reg. 4, 211, 1971

75) Hayakawa, T., Perkins, J.P., Walsh, D.A., Krebs, E.G.:
Physiochemical properties of rabbit skeletal muscle phosphorylase kinase.
Biochemistry, 12, 567, 1973

76) Cohen, P.:
The subunit structure of rabit skeletal muscle phosphorylase kinase and the molecular basis of its activation reactions.
Eur. J. Biochem. 34, 1, 1973

77) Hujing, F., Larner, J.:
On the effect of adenosine-3', 5' cyclophosphate on the kinase of UDGP α-1,4 Glucan-α 4-Glucosyl-transferase
Biochem. Biophys. Res. Commun. 23, 259, 1966

78) Killilea, S.D., Brandt, H., Lee, E.Y.C., Whelan, W.J.:
Evidence for the coordinate control of activity of liver glycogen synthetase and phosphorylase by a single protein phosphatase.
J. Biol. Chem. 251, 2363, 1976

79) Nimmo, H.G., Cohen, P.:
Glycogen synthetase kinase 2, the identification of an new protein kinase in skeletal muscle.
FEBS Lett. 47, 162, 1974

80) Cohen, P., Antoniw, J.F., Nimmo, H.G.:
Identification and role of two new regulatory enzymes in glycogen metabolism
10th Int. Congress of Biochemistry, Abstract p. 366, 1976

81) Nimmo, H.G., Proud, C.G., Cohen, P.:
The phosphorylation of rabbit skeletal muscle glycogen synthetase by glycogen synthetase kinase 2 and adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase.
Eur. J. Biochem. 68, 21, 1976

82) Hers, H.G., deWulf, H., Stalmans, W., van den Berghe, G.:
The control of glycogen-synthesis in the liver.
Adv. Enzyme Regul. 8, 171, 1970

83) Glinsmann, W., Pank, G., Hern, E.:
Control of rat glycogen synthetase and phosphorylase activities by glucose.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 39, 774, 1970

84) Maddaiah, V.T., Madsen, N.B.:
Studies on the biological control of glycogen metabolism in liver.
I. State and activity pattern of glycogen-phosphorylase
Biochim. Biophy. Acta 121, 261, 1966

85) Madsen, N.B.:
The inhibition of glycogen phosphorylase by uridine-diphosphate-glucose.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 6, 310, 1961

86) Madsen, N.B.:
The biological control of glycogen metabolism in Agrobacterium tumefaciens.
Can. J. Biochem. Physiol. 41, 561, 1963

87) deWitt-Stetten Jr., Stetten, M.R.:
Glycogen metabolism.
Physiol. Rev. 40, 595, 1960

88) Hörl, W.H., Sperling, J., Heidland, A.:
Enhanced glycogen turnover in skeletal muscle of uremic rats cause of uncontrolled actomyosin ATPase.
Am. J. Clin. Nutr. 31, 1861, 1978

89) Schmid, G., Fricke, L., Hempel, K., Heidland, A.:
Erhöhter c-AMP-Gehalt des quergestreiften Muskels bei chronischer Niereninsuffizienz.
Dtsch. Med. Wschr. 100, 2397, 1975

90) Helmreich, E., Cori, C.F.:
Regulation of glycolysis in muscle.
Adv. Enzyme Regul. (ed. Weber, G.) 3, 91, 1965

91) Perry, S.V., Cole, H.A., Head, J.F., Wilson, F.J.:
Localization and mode of action of the inhibitory protein component of the troponin complex.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 37, 251, 1972

92) Drabkin, D.L., Marsh, J.B.:
Metabolic channeling in experimental nephrosis.
I. Protein and carbohydrate metabolism.
J. Biol. Chem. 212, 623, 1955

93) Boucot, N.G., Guild, W.R., Merrill, J.P.:
Carbohydrate metabolism in rats with acute uremia.
Am. J. Physiol. 192, 30, 1958

94) Boucot, N.G., Nurser, E.K., Merrill, J.P.:
Carbohydrate metabolism in rats with chronic uremia.
Am. J. Physiol. 198, 797, 1960

95) Boucot, N.G., Zottu, S.M.:
Glucose and pyruvate metabolism in liver slices of chronically uremic rats.
Am. J. Physiol. 198, 1079, 1960

96) Dzurik, R., Brixova, E.:
Liver glycogen concentration in patints with chronic uremia
Experientia 24, 552, 1968

97) Lowry, N.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.:
Protein measurements with the folin reagents.
J. Biol. Chem. 193, 265, 1951

98) Montgomery, R.:
Determination of glycogen.
Arch. Biochem. Biophys. 67, 378, 1957

99) Thomas, I.A., Schlender, K.K., Larner, J.:
A rapid filter assay for UDP glucose-glycogen-glycosyltransferase, including an improved biosynthesis of UDP ^{14}C-Glucose
Anal. Biochem. 25, 486, 1968

100) Hedrick, J.L., Fischer, E.H.:
On the role of pyridoxol 5'-phosphate in phosphorylase.
I. Absence of classical vitamin B_6-dependent enzymatic activities in muscle glycogen phosphorylase.
Biochem. 4, 1337, 1965

101) Stalmans, W., Hers, H.G.:
The stimulation of liver phosphorylase b by AMP, fluoride and sulfate.
Europ. J. Biochem. 54, 341, 1975

102) Owen, E.E., Robinson, R.R.:
Amino acid extraction and ammonia metabolism by the human kidney during the prolonged administration of ammonium chloride.
J. Clin. Invest. 42, 263, 1963

103) Addae, S.K., Lotspeich, W.D.:
Relation between glutamine utilization and production in metabolic acidosis.
Am. J. Physiol. 215, 269, 1968

104) Windmueller, H.G., Spaeth, A.E.:
Identification of ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine.
J. Biol. Chem. 253, 69, 1978

105) Felig, P., Wahren, J., Sherwin, R., Palaiologas, G.:
Amino acid and protein metabolism in diabetes mellitus.
Arch. Intern. Med. 137, 507, 1977

106) Chang, T.W., Goldberg, A.L.:
The origin of alanin produced in skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 253, 3677, 1978

107) Fröhlich, J., Hoppe-Seyler, G., Maier, K.P., Gerok, W.:
Possible sites of interaction of acute renal failure with amino acid utilization for gluconeogenesis in isolated perfused rat liver.
J. Clin. Invest. 7, 261, 1977

108) O'Keefe, S., J.D., Sender, D.M.:
Catabolic loss of body nitrogen in response to surgery
Lancet 2, 1035, 1974

109) Wahren, J., Felig, P., Cerasi, E., Luft, R.:
Splanchnic and peripheral glucose and amino acid metabolism in diabetes mellitus
J. Clin. Invest. 51, 1870, 1972

110) DeFronzo, R.A.:
Pathogenesis of glucose intolerance in uremia.
Metabolism 27, 1866, 1978

111) Chiasson, J.L., Liljenquist, J.E., Finger, F.E., Lacy, W.W.:
Differential sensitivity of glycogenolysis and gluconeogenesis to insulin infusions in dogs
Diabetes, 25, 1662, 1976

112) Rubenfeld, S., Garber, J.:
Abnormal carbohydrate metabolism in chronic renal failure. The potential role of accelarated glucose production, increased gluconeogensis and impaired glucose disposal
J. Clin. Invest. 62, 20, 1978

113) Reaven, G.M., Reaven, P.P.:
Development of fasting hyperglycemia in uremic rats
Metabolism 26, 1251, 1947

114) Maier, K.P., Hoppe-Seyler, G., Talke, H., Fröhlich, J., Scholl-meyer, P., Gerok, W.:
Enzymatic and metabolic studies on carbohydrate and amino acid metabolism in rat liver during acute uremia.
Europ. J. clin. Invest. 3, 201, 1973

115) Hörl, W., Stepinski, J., Schäfer, R., Schlenk, G., Heidland, A.:
Über die Schlüsselrolle von Serin im Kohlenhydratstoffwechsel bei akuter Urämie. In Dittrich, P. (Hrsg.): Aktuelle Probleme der Dialyse. Bindernagel Verlag, Friedberg

116) Cohen, B.D.:
Abnormal carbohydrate metabolism in renal disease
Ann. Intern. Med. 57, 204, 1962

117) Dzurik, R.:
Pathophysiology of carbohydrate metabolism in renal insuffiency.
Rev. Czechoslovak Med. 20, 179, 1974

118) Bergström, J., Hultman, E.:
Glykogen content of skeletal muscle in patients with renal failure.
Acta med. scand. 186, 171, 1969

119) Heilmeyer, L. Jr., Haschke, R.H.:
Influences of heterologues protein interactions on the control of glycogen phosphorylase.
In Protein-Protein Interactions Hrsg. R. Jaenicke und E. Helmreich, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1972

LEBENSLAUF

Rainer Glöckner

Kardinal-Döpfner-Platz 1
8700 Würzburg

geboren am 30.11.1953	in Schweinfurt/Bayern
Sept. 1960 - Juli 1964	Besuch der Volksschule Marktsteinach
Sept. 1964 - Juni 1973	Besuch des Celtis-Gymnasium Schweinfurt (Neusprachl. Zweig)
Juni 1973	Abitur
Juli 1973 - Sept. 1974	Wehrdienst
Oktober 1974	Beginn des Medizinstudiums an der Universität Würzburg
August 1976	Ärztliche Vorprüfung
August 1977	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
August 1979	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Oktober 1980	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

R. Glöckner

Citydruck · Haugerglacisstraße · 8700 Würzburg